

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08995

研究課題名(和文)メタボローム解析を用いた原発性中枢性リンパ腫における新規バイオマーカーの探索

研究課題名(英文)Metabolomic biomarkers to diagnose primary CNS lymphoma

研究代表者

水川 克(Mizukawa, Katsu)

神戸大学・医学部附属病院・非常勤講師

研究者番号：80403260

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)の確定診断は生検術による組織病理診断が標準である。しかし、生検術には出血やけいれん、感染など手技に伴う合併症が報告されている。本研究では、PCNSL患者の髄液中 2-microglobulin (2-MG)やsoluble IL-2 receptor (sIL-2R)に加えて、interleukin-10 (IL-10)やC-X-C motif chemokine ligand 13 (CXCL13)の上昇に着目し、それらを用いた高い精度の診断アルゴリズムを開発した。特にCXCL13はPCNSL患者の予後因子としても有用な髄液腫瘍マーカーと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PCNSLの診断法のgold standardは生検術による組織診断であり、通常は組織診断確定により放射線治療や化学療法が開始となる。sIL-2 レセプターやbeta2-microglobulinなどの髄液バイオマーカーは術前診断の決定の一助となる。今回、メタボローム解析による術前診断に有用な代謝物の同定には至らなかったが、IL-10やCXCL13などの新たな髄液バイオマーカーを前述のマーカーに組み合わせることによって高い精度の診断アルゴリズムを開発した。今後はPCNSLの術前診断に加えて治療効果の判定や再発の予知などにも応用できると考えられ、当研究の臨床的意義は非常に高いと思われる。

研究成果の概要(英文)：Tumor biopsy is essential for the definitive diagnosis of central nervous system (CNS) lymphoma. However, the biopsy procedure carries the risk of complications such as bleeding, convulsions, and infection. We established a multi-marker diagnostic model using the C-X-C motif chemokine ligand 13 (CXCL13), interleukin-10 (IL-10), 2-microglobulin (2-MG), and soluble IL-2 receptor (sIL-2R) in cerebrospinal fluid (CSF). In addition, CSF CXCL13 was a prognostic biomarker for CNS lymphoma patients. Our study suggests that multi-marker algorithms are important diagnostic tools for patients with CNS lymphoma.

研究分野：脳神経外科

キーワード：原発性中枢性リンパ腫 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

原発性中枢神経リンパ腫 (PCNSL) はここ 30 年間で急激にその発生率が増加している頭蓋内悪性腫瘍である(DeAngelis et al, *N Engl J Med* 2001)。PCNSL の 90%以上は Diffuse large B cell lymphoma であり、近年では亜型分類として EZH2 mutation、Myc や Bcl2 の染色体転座、PI3K や AKT 経路の活性化を高頻度に認める胚中心 B 細胞型(germinal center B-cell pattern; GCB 型) と MYD88, CD79B などの遺伝子変異や JAK-STAT 経路の活性化を高頻度に認める活性型胚細胞中心 B 細胞型(ABC 型) が報告されており、ABC 型ではより予後が悪い傾向にある(Perry AM et al, *Blood* 2012)。特に MYD88 や CD79B の変異頻度は全身性の DLBCL よりも PCNSL で高く、病態解明や治療ターゲットとして注目されている。

また近年、がんと代謝異常について様々な報告がなされており、グルコース代謝、グルタミン代謝、アミノ酸代謝などといった代謝調節が、がん遺伝子やがん抑制遺伝子、増殖シグナル、エピゲノム調節と関連していると報告されている。そのため、代謝物を網羅的に解析することで、疾患特有の異常代謝産物を発見し、新たなバイオマーカーの同定や異常代謝物やそれを調節する酵素活性を標的とした新たな治療法も開発され、臨床応用に至る研究も多く報告されている。しかし、頭蓋内 PCNSL のメタボローム解析についてはほとんど報告がない。

2. 研究の目的

本研究では、PCNSL の治療経過における代謝変化を、MRS や質量分析器を用いて解析し、染色体異常、遺伝子変異、サブタイプや予後との関連性の解析および治療ターゲットの同定を行い、今後の治療戦略へ向けた新たな方向性を呈示する事を目的とする。代謝物を測定する革新的技術を応用し、PCNSL の新たな予後予測マーカーを検討するとともに、代謝異常を標的とした新規治療薬の開発をめざす。

3. 研究の方法

1. MRS を用いた原発性中枢神経リンパ腫の代謝物解析

原発性中枢神経リンパ腫(PCNSL)患者の術前、放射線化学療法前後、寛解後、再発時に MRS 画像を用い種々の代謝物を測定する。

2. 腫瘍組織標本の摘出

術中ナビゲーションガイド (BrainLab TM) 下に、MRS で測定した関心領域に一致した腫瘍を採取し、病理標本の作製と一部は-80 で凍結保存し、のちの解析に備える。

3. 腫瘍組織のメタボローム解析

術中に採取した腫瘍組織を、質量分析器にてメタボローム解析を行う。過去に同意を得て採取された正常脳組織やグリオーマ組織のデータと比較する。また早期再発症例と寛解例でのメタボロームの特徴を比較することで、早期再発のバイオマーカーを探索し、治療戦略を考察する。特に PCNSL の治療薬であるメトトレキサートは葉酸代謝拮抗薬であり、メトトレキサートの感受性の高い腫瘍と低い腫瘍での術前の代謝状態に差があるのか、治療による代謝変化などについて解析する。

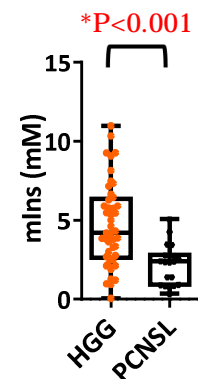
4. PCNSL の予後と関連する代謝経路の解析および治療ターゲットの同定

1-3) の結果より得られた変動のある代謝経路に注目し、リアルタイム PCR 法やウエスタンブロット法を用いて代謝関連遺伝子やタンパクの発現解析を行う。また摘出組織の染色体・遺伝子変異解析、サブタイプ解析を行い、そこで得られたデータから PCNSL の遺伝子変異、サブタイプや予後と関連する代謝経路の解析および治療ターゲットの同定を行う。

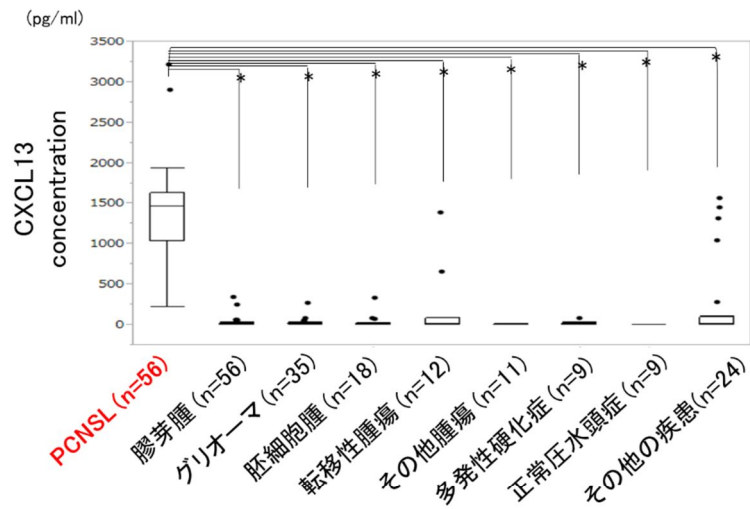
4. 研究成果

1) PCNSL 患者の術前 MRS 評価を行い、健側の正常脳や鑑別の対象となる悪性グリオーマ(HGG)と比べて myo-inositol (mIns)の値が著明に低いことを見出した。

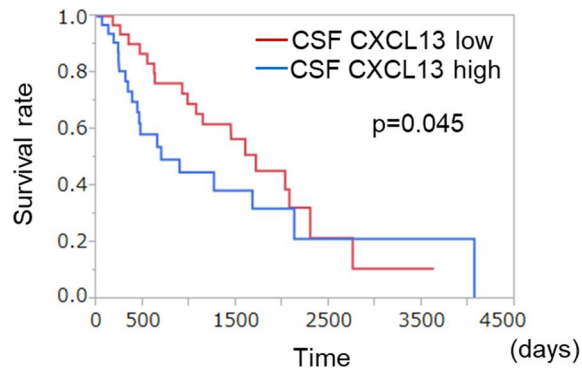
2) PCNSL 組織標本の質量分析器を用いたメタボローム解析では MYD88 や CD79B の変異頻度と相関するような有意な結果が得られなかった。



3) PCNSL 患者の髄液中のバイオマーカーとして C-XCmotif chemokine ligand 13 (CXCL13) が上昇していることに注目し、CXCL13 が予後予測因子であることを見出した。また、既知の 2-microglobulin (2-MG) や soluble IL-2 receptor (sIL-2R)、interleukin-10 (IL-10) 値との組み合わせによって診断アルゴリズムを開発した。その結果、感度、特異度とも 97% と非常に優れた診断能を有し、手術を行わず非侵襲的に PCNSL の正確な診断が出来ることを報告した。



OS



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Maeyama M, Sasayama T, Tanaka K, Nakamizo S, Tanaka H, Nishihara M, Fujita Y, Sekiguchi K, Kohta M, Mizukawa K, Hirose T, Itoh T, Kohmura E.	4. 巻 9(12)
2. 論文標題 Multi-marker algorithms based on CXCL13, IL-10, sIL-2 receptor, and 2-microglobulin in cerebrospinal fluid to diagnose CNS lymphoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 4114-4125.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.3048.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka H, Yamamoto D, Ikeda M, Morikawa M, Ueda K, Tanaka K, Sasayama T, Kohmura E.	4. 巻 54
2. 論文標題 Embryonal brain tumor with unknown primary lesion and massive cerebrospinal fluid dissemination: A case report.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Clin Neurosci.	6. 最初と最後の頁 125 - 128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jocn.2018.04.046.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sakata J, Sasayama T, Tanaka K, Nagashima H, Nakada M, Tanaka H, Hashimoto N, Kagawa N, Kinoshita M, Nakamizo S, Maeyama M, Nishihara M, Hosoda K, Kohmura E.	4. 巻 142(2)
2. 論文標題 MicroRNA regulating stanniocalcin-1 is a metastasis and dissemination promoting factor in glioblastoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurooncol.	6. 最初と最後の頁 241 - 251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11060-019-03113-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 篠山隆司、田中一寛、藤田祐一、橋口充、前山昌博
2. 発表標題 初発中枢神経悪性リンパ腫（PCNSL）に対するR-MPV療法の安全性と有用性について
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	篠山 隆司 (Sasayama Takashi) (10379399)	神戸大学・医学部附属病院・教授 (14501)	
研究 分担者	甲村 英二 (Kohmura Eiji) (30225388)	神戸大学・医学研究科・名誉教授 (14501)	
研究 分担者	田中 一寛 (Tanaka Kazuhiro) (70467661)	神戸大学・医学研究科・講師 (14501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------